

УДК 630.18

Н. М. Шебалова

(Уральский государственный лесотехнический университет)

ВЛИЯНИЕ НЕФТЕПРОДУКТОВ НА СОСТАВ МИКРОБОЦЕНОЗОВ ЛЕСНЫХ ПОЧВ

Приводятся данные о составе микробоценозов в загрязненных нефтью почвах.

В настоящее время для диагностики почв используются достижения всех разделов почвоведения, в частности, морфологии, химии, физики и минералогии почв. Известно, что физические и химические свойства характеризуют относительно консервативные накопившиеся признаки и свойства почв, заложенные в ее «памяти». Биология же почв располагает показателями, которые характеризуют динамические свойства, являющиеся индикаторами современного режима жизни почв.

В основе принципа биологической диагностики почв лежит представление о том, что почва как среда обитания составляет единую систему с населяющими ее популяциями разных организмов. Микроорганизмы своей жизнедеятельностью в значительной мере влияют на процессы, происходящие в почве, создавая условия для развития тех или иных биогеоценозов. Они очень чувствительные индикаторы, резко реагирующие на различные изменения в среде, и в зависимости от интенсивности воздействия и длительности неблагоприятных факторов среды обитания дают на них ответ, проявляющийся в специфических и неспецифических реакциях изменения. Отсюда и необычная динамичность микробиологических показателей.

Микроорганизмы, способные существовать за счет одних лишь углеводов, не являются узкоспециализированными (за исключением метаноокисляющих) и могут использовать другие органические вещества. Они распространены очень широко и могут быть выделены из лесной и луговой почв.

От других членов гетеротрофного микробоценоза нефтеокисляющие микроорганизмы отличаются двумя особенностями – способностью к поглощению гидрофобных соединений и наличием углеродоокисляющих ферментов. Поэтому в случае загрязнения нефтяными углеводородами такие микроорганизмы получают преимущество перед другими. Именно их размножением и обусловлен эффект самоочищения воды и почвы.

Общее количество микроорганизмов в почве свидетельствует об интенсивности биохимических процессов, протекающих в ней. Однако почвы характеризуются не только составом и численностью разных групп биоты, но и их суммарной активностью, а также активностью биохимиче-

ских процессов, обусловленных наличием в почве определенного запаса ферментов, выделенных прижизненно в результате деятельности растений и микроорганизмов и аккумулированных почвой после разрушения клеток. Эти показатели характеризуют масштабы и направление процессов превращения вещества и энергии в природных экосистемах, интенсивность переработки органических остатков и разрушения загрязнений.

В наших исследованиях для выявления, изучения и учета численности представителей микроскопического мира, населяющих исследуемые образцы, мы использовали метод посева разведенной почвенной суспензии на плотную питательную среду. Для разрушения почвенных агрегатов и десорбции микроорганизмов с поверхности почвенных частиц, а также выделения из исследуемого почвенного образца в водную вытяжку наибольшего количества микроорганизмов перед посевом проводилась предварительная обработка. Навеску почвенного образца тщательно растирали в агатовой ступке, переносили в колбу, добавляли дистиллированной воды и встряхивали в течение двух часов. Затем готовили разведение почвенной суспензии и проводили поверхностный посев на плотную питательную среду. Выращивание осуществляли в суховоздушном термостате при температуре 28°C в течение 25 дней. Для выполнения исследования, связанного с выращиванием микроорганизмов, посев проводили в трехкратной повторности.

Выросшая на твердой питательной среде почвенная микрофлора описывалась по культуральным признакам – размер колонии, ее профиль, край, поверхность, цвет, блеск, прозрачность, консистенция, вид колонии. Для более детального изучения морфологических групп бактерий готовили постоянные микробиологические препараты, используя колонии, выросшие в чашках Петри. Морфологию живых бактериальных клеток изучали микрокопированием колонии, готовя параллельно два препарата: прижизненный - «раздавленная капля» и постоянный - «мазок». В прижизненном препарате исследовали характер движения бактерий, форму и взаимное расположение клеток, их размеры. Фиксированные препараты микроорганизмов окрашивали метиленовым синим и сложным окрашиванием по Грамму.

Общее количество микроорганизмов в почве свидетельствует об интенсивности биохимических процессов, протекающих в ней и определяющих накопление элементов корневого питания растений. Из данных таблицы следует, что количество микроорганизмов находится в определенной зависимости от времени проведения рекультивации.

Качественный и количественный состав микробценозов исследуемых образцов

Почва	Количество колоний, кол./г углерода $\times 10^3$	Микрофлора. Культуральные и морфологические признаки	Количество видов
Нерекультивированная почва	102,6 - 111,4	<p><i>Род Pseudomonas</i> б / ц мелкие, средние, большие плоские колонии, подвижные гр.- очень мелкие и средние палочки розовые мелкие колонии, подвижные гр.- палочки светло-желтые мелкие колонии, подвижные гр.- палочки белые, мелкие и средние колонии, подвижные гр.- палочки</p> <p><i>Род Arthrobacter</i> <i>Род Micrococcus</i> <i>Род Acinetobacter</i> <i>Род Penicillium</i> <i>Род Bacillus</i></p>	<p>7</p> <p>1</p> <p>2</p> <p>1</p> <p>1</p>
Почва через два года после рекультивации	320,1 - 525,8	<p><i>Род Pseudomonas</i> б / ц средние, большие и конусообразные колонии, подвижные гр.- очень мелкие палочки</p> <p><i>Род Arthrobacter</i> <i>Род Micrococcus</i> <i>Род Acinetobacter</i> <i>Род Rhodococcus</i> <i>Род Bacillus</i></p>	<p>3</p> <p>1</p> <p>1</p> <p>1</p> <p>1</p>

Проведенные исследования показали, что минимальная численность микроорганизмов характерна для нерекультивированной почвы участка (всего $102-111 \times 10^3$). В образцах почвы, подвергшейся рекультивации, количество почвенной микрофлоры возрастает и колеблется в пределах от 479×10^3 до 579×10^3 колоний на 1 г углерода.

Почвы характеризуются не только численностью, но и составом разных групп биоты. Проведенные исследования показали, что во всех исследованных нами образцах присутствуют представители рода *Pseudomonas*. Их численность в почвенных образцах колеблется в пределах от 62 до 100 % от общей численности выросших на средах микроорганизмов.

“Псевдомонадами” принято называть все грамотрицательные палочковидные (прямые или слабоизогнутые) бактерии с полярно расположенными жгутиками. Они не образуют спор и растут в аэробных условиях. В основном это мелкие одиночные подвижные или очень подвижные бактерии. Они, как правило, аэробы, редко – факультативные анаэробы. Энергию они получают путем аэробного, иногда и анаэробного дыхания, но не за счет брожения.

Бактерии данного рода встречаются повсеместно и в почвенных образцах, и в водных. Во-первых, это очевидно связано с их невысокой требовательностью к среде своего обитания. И во-вторых, среди псевдомонад как морфологической группы имеется много физиологически высокоспециализированных бактерий. Например, к роду *Pseudomonas* относятся, помимо фитопатогенов, денитрификаторы, водородные бактерии, нитритные, серные. И как было высказано ранее, многие представители данного рода обладают довольно высокой углеродоксилирующей активностью и эмульгирующими свойствами.

Установлено, что практически во всех почвенных образцах присутствуют желтопигментные бактерии рода *Pseudomonas*, являющиеся возбудителями болезней у растений. Содержание их в почве колеблется от 0,5 до 1,7 % от общей численности изученных нами микроорганизмов.

На долю микроорганизмов других родов приходится от 0 до 38 %. На рекультивированных почвах количество представителей рода *Pseudomonas* уменьшается и возрастает численность *Acinetobacter*, *Rhodococcus* и *Micrococcus*. Сравнение ростовых характеристик углеродоксилирующих бактерий родов *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter* показало, что сродство их к углеводородному и водорастворимому субстратам различно. У клеток родококки и артробактерий отсутствует способность быстро переключаться на новый субстрат, а у псевдомонад существует адаптация к новому субстрату. Поэтому быстрая адаптация к субстратам и способность высокого роста на водорастворимых органических соединениях дает бактериям рода *Pseudomonas* шанс на выживание в естественной среде. Углеродоксилирующая активность “родококов” в 70 раз превосходит актив-

ность “псевдомонад”. Это связано с более крупными размерами “родококков”, а также с их способностью окислять значительно большие количества н-алкана, чем это необходимо для удовлетворения энергетических и конструктивных потребностей клеток. Избыток окисленного н-алкана родококки и артробактерии переводят в нейтральные липиды (триглицериды, воски), тогда как псевдомонады внутреннего пула углеводородов не имеют и резервных липидов не образуют.

Представители рода *Acinetobacter* - сапрофиты. *Acinetobacter* бактерии не использует в качестве источников питания глюкозу, ди- и полисахариды, но в остальном по своей разносторонней способности использовать другие субстраты сходны с представителями рода *Pseudomonas*.

Микроорганизмы родов *Rhodococcus* и *Micrococcus* являются грамположительными микроорганизмами и относятся к корнеподобным бактериям. Эти бактерии характеризуются плеоморфным ростом с циклом “кокк – палочка – кокк”. Считается, что представители рода *Rhodococcus* с красными колониями широко распространены в почвах, загрязненных нефтью, в пластовых водах нефтяных и газовых месторождений.

В некоторых образцах присутствуют грамположительные бактерии рода *Arthrobacter*, гетеротрофы, участвующие в процессах минерализации органических веществ в почвах в экстремальных условиях. Популяции этих бактерий выживают благодаря очень экономному расходованию субстратов.

Среди грамположительных микроорганизмов в отличие от грамотрицательных мало патогенных форм, нет внутриклеточных паразитов.

Выводы

Способность использовать нефть в качестве источника энергии присуща не единичным специализированным формам, а многим бактериям и грибам. Они могут использовать в качестве источника питания и другие органические вещества и поэтому могут присутствовать в любой почве – лесной, луговой и др. Наиболее распространенными в загрязненных нефтью местообитаниях являются бактерии родов *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*. Представители всех перечисленных родов присутствуют в исследованных нами почвенных образцах. Преобладают бактерии рода *Pseudomonas*, их количество составляет свыше 60 % от общей численности микроорганизмов. Невысокие показатели численности нефтеокисляющей микрофлоры связаны с тем, что в естественных условиях на формирование углеродоокисляющего сообщества накладывают свой отпечаток неблагоприятные факторы внешней среды.